Rat IL-12p40 ELISA KIT

目录号	规格
CRE0008	96 Tests
CRE0008	48 Tests

北京四正柏生物科技有限公司

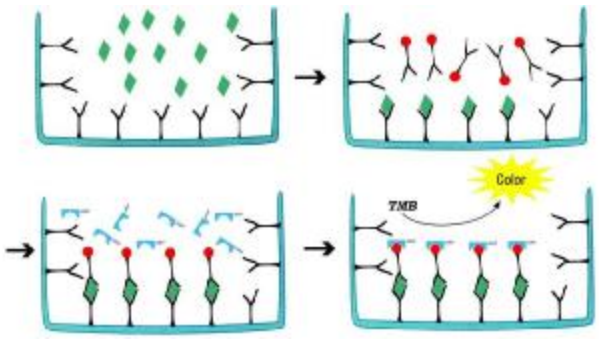
(本试剂盒用于体外定量检测大鼠血清、血浆或细胞培养上清液中天然和重组 IL-12p40 浓度，供科研使用。**使用前请仔细阅读说明书并检查试剂组分**, 若有任何疑问请与北京四正柏生物科技有限公司联系，您将得到我们的技术支持。

简介:

白细胞介素12（IL-12）主要由活化的巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞产生，有致炎作用和免疫调节作用。IL-12又名NK细胞刺激因子（nature killer stimulating factor，NKSF）、细胞毒性淋巴细胞成熟因子（cytotoxic lymphocyte maturation factor，CLMF）。IL-12的体外效应：IL-12能诱导PHA刺激的T细胞增殖。IL-12能增加$CD56^+$NK细胞的活性；诱导NK细胞或PBMC增殖和产生LAK活性，增加NK细胞表达表面分子（IL-2Rα、TNFR、CD56、CD2、CD11a、CD54、CD25、CD69、CD71和HLA-DR）；促进NK细胞产生IFN-γ和TNF-α（TGF-β和IL-10抑制该效应）。IL-12在BCG和LPS诱导的小鼠炎性休克所致的死亡中起重要作用。IL-12通过诱导TNF-α和IFN-γ，抑制骨髓造血。IL-12还有抗血管生成作用。IL-12的体内效应：将IL-12输入动物体内可以增强NK细胞的杀伤活性、增加IFN-γ分泌、启动造血细胞大量生成、增强异体排斥反应并可能介导抗肿瘤效应。IL-12在某些Th1介导的自身免疫疾病中起重要作用。IL-12诱导动物脾肿大，其中含有大量造血细胞，红细胞系、髓样细胞系和巨核细胞系都增加。IL-2抑制骨髓造血的作用可能与诱导NK细胞产生IFN-γ等有关。在小鼠肿瘤模型中，IL-12的抗肿瘤作用依赖IFN-γ的增加，且与IL-2、IFN-α以及一些化学治疗药物有协同抗肿瘤作用。

检测原理:

本实验采用双抗体夹心ELISA法。抗大鼠IL-12p40单抗包被于酶标板上，加入标本、标准品和生物素化的抗大鼠IL-12p40抗体，标本、标准品中的IL-12p40与包被于酶标板上的单抗和生物素化抗大鼠IL-12p40抗体结合，形成免疫复合物，游离的成分被洗去。加入辣根过氧化物酶标记的亲合素，生物素与亲合素特异性结合, 游离的成分被洗去。加入显色剂，若反应孔中有IL-12p40，辣根过氧化物酶会使无色的显色剂现蓝色，加终止液变黄。在450nm处测OD值，IL-12p40浓度与OD_{450}值之间呈正比，可通过绘制标准曲线求出标本中IL-12p40浓度。



标本收集:

1. 收集血液的试管应为无热原和内毒素试管。
2. 血浆抗凝剂推荐EDTA。
3. 避免溶血，高血脂标本。

电话：010-52116823/24 传真：010-62116831 网址：http://www.4abio.com Email:info@4abio.com

4. 标本应清澈透明，悬浮物应离心去除。
5. 标本收集后若不及时检测，请按一次用量分装，冻存于－20℃，避免反复冻融。
6. 可根据实际情况，将标本做适当倍数稀释(建议做预实验，以确定稀释倍数)。
   注：血清或血浆样本建议做1：2稀释。

所需物品(不提供，但可协助购买)**：**

1. 酶标仪(450nm)
2. 高精度加液器及吸头：0.5-10,2-20,20-200,200-1000ul
3. 37℃温箱,双蒸水或去离子水，坐标纸。

试剂盒组成:

1a 标准品	2/1支(冻干)*	4℃
1b 标准品和标本稀释液	1瓶	4℃
2a 浓缩生物素化抗体	2/1支*	4℃
2b 生物素化抗体稀释液	1瓶	4℃
3a 浓缩酶结合物	2/1支*	4℃(避光)
3b 酶结合物稀释液	1瓶	4℃
4 浓缩洗涤液 20 ×	1瓶	4℃
显色剂	1瓶	4℃(避光)
终止液	1瓶	4℃
抗体包被板条	8 × 12 或 8 × 6*	4℃
封板胶纸	3/2张*	
说明书	1份	*:[96/48 Tests]

注意事项:

1. 试剂盒保存在2-8℃，除复溶后的标准品，其他成分不可冻结。
2. 浓缩生物素化抗体(2a)、浓缩酶结合物(3a)装量极少，运输中颠簸和可能的倒置，会使液体沾到管壁或瓶盖。因此使用前请用手甩几下或离心处理，以使附着管壁或瓶盖的液体沉积到管底。
3. 从冰箱中取出的浓缩洗涤液可能有结晶,这属于正常现象，加热使结晶完全溶解后再配制。
4. 若重复使用标准品应按照一次用量分装后，将其放在-20～-70℃贮存。一次性使用，避免反复冻融。
5. 不同批号的试剂盒组份不能混用。
6. 充分混匀对反应结果尤为重要，最好使用微量振荡器(使用最低频率)，如无微量振荡器，可在反应过程中每10分钟手工混匀一次。
7. 在试验中标准品和样本检测时建议作双复孔或三复孔。

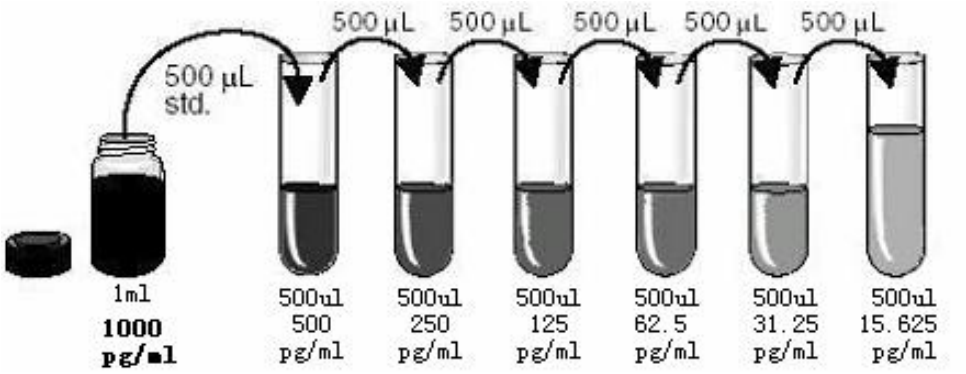
检测前准备工作:

1. 请提前20分钟从冰箱中取出试剂盒，以平衡至室温。
2. 将浓缩洗涤液用双蒸水稀释(1:20)。未用完的放回4℃。

电话：010-52116823/24 传真：010-62116831 网址：http://www.4abio.com Email:info@4abio.com

3. 标准品：加入标准品/标本稀释液(1b)1.0ml至冻干标准品(1a)中，待彻底溶解后，静置15分钟混匀(浓度为1000 pg/ml)。然后根据需要进行稀释。(建议标准曲线使用以下浓度：1000、500、250、 125、 62.5、31.25、15.625、0 pg/ml,)。复溶标准品若未用完请放入-20℃保存，稀释的标准品不得重复使用。

标准品稀释方法:



4.生物素化抗体工作液：以生物素化抗体稀释液(2b)稀释浓缩生物素化抗体(2a)(1:100)。最好当日使用。

5.酶结合物工作液：以酶结合物稀释液(3b) 稀释浓缩酶结合物(3a)(1:100)。最好当日使用。

洗涤方法:

1. 自动洗板机：要求注入的洗涤液为350ul，注入与吸出间隔15－30秒。洗板4次。
2. 手工洗板：甩尽孔内液体，每孔加洗涤液350ul，静置30秒后甩尽液体，在厚迭吸水纸上拍干。洗板5次。

操作步骤:

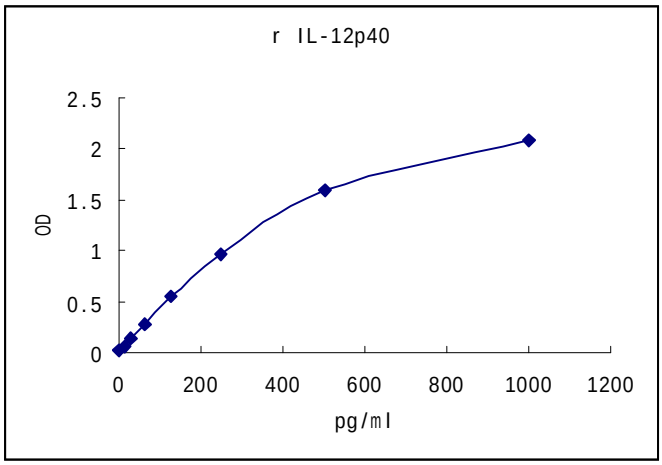
1. 从已平衡至室温的密封袋中取出所需板条，其它板条请密封放回4℃。
2. 除空白孔外，分别将标本或不同浓度标准品(100ul/孔)加入相应孔中；加入生物素化抗体工作液(50ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔，室温孵育120分钟。充分混匀对反应结果尤为重要，要使用微量振荡器（最低频率700rpm）。
3. 洗板4次。
4. 除空白孔外，加入酶结合物工作液(100ul/孔)。用封板胶纸封住反应孔，室温孵育30分钟。使用微量振荡器(使用最低频率700rpm)。
5. 洗板4次。
6. 加入显色剂100ul/孔，避光，室温，孵育20--30分钟。
7. 加入终止液100ul/孔,混匀后即刻测量OD_{450}值(5分钟内)。

结果判断:

1. 每个标准品和标本的OD值应减去零孔的OD值。

电话：010-52116823/24 传真：010-62116831 网址：http://www.4abio.com Email:info@4abio.com

2. 手工绘制标准曲线。以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，以平滑线连接各标准品的坐标点。通过标本的OD值可在标准曲线上查出其浓度。
3. 若标本OD值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数



注意：本图仅供参考，应以同次试验标准品所绘标准曲线计算标本含量。

灵敏度，特异性和重复性:

1. 灵敏度：最小可测大鼠IL-12p40达4pg/ml.
2. 特异性：不与IL－1,2,4,5,6,8,10,IFN,TNF及sTNF-RII等反应。
3. 重复性：板内，板间变异系数均<10%.

电话：010-52116823/24 传真：010-62116831 网址：http://www.4abio.com Email:info@4abio.com